

持続可能な材料設計に向けた確実な結合とやさしい分解
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

野田 修平

理化学研究所 環境資源科学研究センター
研究員

剛直成分含有ポリマーの完全バイオ循環空間デザイン

研究成果の概要

2,5-フランジカルボン酸(25FD)、2,5-ピリジンジカルボン酸(25PD)の再生可能資源由来原料からの微生物合成を目指し、それぞれの合成遺伝子のクローニングを行った。また、2,5-フランジカルボン酸及びエチレングリコールからなるエステル化合物の微生物合成を行うため、芳香族カルボン酸に特異的なアシルトランスフェラーゼ(ATF)のスクリーニングを検討した。ターゲットとしては、主に植物由来遺伝子に狙いを定めた。芳香環成分を含む化合物をポリマー重合可能なポリマー重合酵素の開発を目指し、PhaC1437の高機能化を目指した。モノマー成分であるモノヒドロキシ2,5-フランジカルボン酸(MH25FD)とPhaC1437のドッキングシミュレーションを行い、変異導入部位の選定を行なった。基質は一般的なポリヒドロキシブタン酸と比較して剛直かつ嵩高いため、基質の入口や反応点付近、基質伸長部位の拡張などに狙いを定め、変異の導入を行う予定である。

ポリマー分解に関しては、まず、プロテアーゼ型、リパーゼ型、それぞれのポリ乳酸分解酵素を大腸菌細胞表層で発現させるシステムを開発する。いくつかの分解酵素を候補に定め、プラスミドベクターへのクローニングを行なった。それぞれの酵素のN末端には大腸菌の膜タンパク質であるBlcを融合しており、それぞれの酵素を大腸菌細胞表層に固定化することができる。また、併せて、ポリ乳酸の分解物である乳酸を獲得しなければ細胞増殖できない大腸菌の開発を行なった。解糖系中のホスホエノールピルビン酸(PEP)と乳酸から1段階で変換可能なピルビン酸(PYR)を基点として代謝を分断し、乳酸を感知して初めて細胞増殖ができる代謝経路を有する大腸菌の創製を行った。この大腸菌は、グルコースと乳酸が存在して初めて増殖可能な代謝デザインが施されており、次年度以降の人工進化実験によるポリ乳酸分解酵素の高機能化に用いる。